动 物 学 研 究 1993，14 (4)：347—353
Zoological Research

ISSN 0254-5853
CN 53-1040 / Q

$^{60}Co-\gamma$ 辐射对尼氏钝绥螨抗多虫畏性状的诱导及其它生物学效应*

田肇东 杜桐源 黄明度
（广东省昆虫研究所 广州 510260）

摘要：本文首次报道了$^{60}Co-\gamma$射线辐射诱导抗药性产生的方法，以2000拉德(rad)的剂量辐射3次，约1年时间培育出尼氏钝绥螨 *Amblyseius nicholsi* Ehara *et* Lee 对拟除虫菊酯农药多虫畏具抗性的两个品系：单抗1 (FR1)与双抗(PFR)品系。多虫畏对其致死中浓度 LC_{50} 由敏感品系的 8.22×10^{-5}ppm 分别提高到 1.3347×10^{-3} 和 1.4307×10^{-3}，抗性水平提高24.16和24.83倍，比直接用农药筛选出的两个品系——单抗1(PR1)与三抗(PDFR)品系的培育时间(27个月)缩短一半以上。FR1，FR2及PFR对常用的几种拟除虫菊酯农药：敌杀死，灭扫利、兴棉宝及来福灵均有一定的交互抗性(3—8倍)，其 LC_{50} 比这些农药田间施用浓度要高3—23倍，为抗性品系的田间利用提供了条件。通过观察辐射的生物学效应再次证实该螨为拟单倍体种(Parahaploid)这一特征。

关键词：$^{60}Co-\gamma$ 辐射，尼氏钝绥螨，抗性，多虫畏(S-5439) 抗药性；辐射；天敌

尼氏钝绥螨 *Amblyseius nicholsi* 是柑桔全爪螨 *Panonychus citri* 的重要天敌。由于桔园生态系统复杂，害虫种类繁多，尼氏螨会常常遭农药的攻击，导致其种群平衡破坏，它的猎物失去控制而爆发或再猖獗。为解决这种生防与化防的矛盾，可以利用具有抗药性的天敌于综防体系中。从目前国内外已有报道看，获取抗药性天敌的主要途径是：1. 在农药用量大、次数多、时间长的"高压"农业生态系统中寻找，但这种野外产生抗性的天敌似乎不如其猎物多，且常常猎物产生抗性快，而天敌较慢；2. 在实验室中，对某种天敌强行高频次地施用农药来筛选抗性个体形成抗性品系。但此法一般需两年以上，且由于长期完全自交会导致一些生物学特性如捕食能力或繁殖力退化。为克服上述缺点，本研究用辐射的方法来诱导抗性基因的产生(或提高抗性基因突变频率)，然后再用农药筛选，试图较快地获得抗性品系。另外鉴于许多螨类具有单倍体或拟单倍体现象，而植绥螨的染色体在普通显微镜下又难辨别其数目及形状，为了将来生产中应用抗性品系时采取合理的释放对策，用辐射遗传学的方法对该螨的生殖方式做初步探索。

---

* 国家自然科学基金资助项目。

多虫畏又名中西除虫菊酯，国内农药登记号为PD8155，代号S-5439，查无英文名。

本文1992年12月17日收到，1993年9月11日修回。

材料与方法

一、供试虫源 1. 尼氏钝绥螨敏感品系(黄明度等，1989)。1979年采自广州郊区桔园。

2. 尼氏钝绥螨抗药性亚胺硫磷品系：1985年培育成功(黄明度等，1989)。

3. 尼氏钝绥螨抗杀虫双-亚胺硫磷品系：从抗亚胺硫磷品系育成(黄明度等，1989)。

二、实验药品仪器及辐射源 1. 多虫畏25%乳油，上海十四制药厂；2. 来福灵5%乳油，日本住友；3. 灭扫利25%乳油，日本住友；4. 敌杀死2.5%乳油，法国罗素优克福公司；5. 兴棉宝10%乳油，英国卜内门化学公司；6. 喷雾塔，1.06 kg/cm^2，英国；7. ^{60}Co-γ射线，华南农业大学同位素室。

三、实验方法 1. 饲养方法(黄明度等，1989)；

2. 敏感品系的纯法(单选法：黄明度等，1989)；

3. 农药筛选法培育抗性品系。

1) 单抗1品系(FR1)培育。从1988年3月开始对敏感品系用多虫畏筛选，初始浓度为5×10^{-5}，筛选若干次后当存活率明显提高时，测定其LC_{50}，再用近LC_{80-90}的浓度筛选。至1990年6月，抗药性水平基本稳定，定名为单抗1(FR1)。2) 三抗品系(PDFR)培育。从1988年3月开始，对亚胺硫磷-杀虫双品系采用多虫畏筛选，初始浓度为5×10^{-5}。方法同FR1筛选并不定期地用亚胺硫磷-杀虫双喷布，以保持其对亚胺硫磷-杀虫双的抗性。1990年6月停止筛选。定名为三抗品系(PDFR)。

4. 辐射诱变-农药筛选培育抗性品系。取刚进入成螨期1—2日龄的雌、雄螨个体约2000头，用梯度剂量的^{60}Co-γ射线辐射，剂量率140 rad/min。求出F1代卵致死率为50%的辐射剂量即致死中剂量RLD_{50}(Medium Radiation Lethal Dosage)，共辐射3次，日期：1989.3，1989.6，1990.1。每次辐射后用多虫畏筛选。

1) 单抗2品系(FR2)培育。对敏感品系辐射3次，1990.8抗药性仍未稳定，暂定名单抗2品系(FR2)。2) 双抗品系(PFR)培育。方法日期同前，但以抗亚胺硫磷品系为初始品系，1990年6月抗药性稳定，定名(PFR)。

5. 抗药性及交互抗性测定。

1) 浸玻片法(黄明度等，1989)测定抗药性发展情况。2) 喷雾塔法(黄明度等，1989)测定交互抗性。

6. 辐射遗传学。

1) 辐射处理：取500—1000头1—2日龄的雄螨用8个梯度剂量(500，1000，2000，4000，5000，6000，8000，10000 rad)的^{60}Co-γ线处理，每处理作1次重复，每重复以5头未经交配并且未经辐射雌螨与15头处理过的雄螨交配，以未处理的雌雄螨作对照。2) 观察记载：隔日移出新产卵并计数正常与瘪卵，各代养至成螨记录两性个数。

结果与分析

一、两种方法培育抗性品系的抗性发展比较 用常规农药筛选与γ线辐射

表1 尼氏钝绥螨各品系对多虫畏的抗药性发展比较

Tab. 1 The developed S-5439-resistance comparison of each strains of *Amblyseius nicholsi*

方法	品系	初始	6月后	12月后	20月后	27月后
单选	敏感	82.28	未测	45.38	50.45	57.62
纯化	S	0.8631		1.6762	2.1304	2.4472
直接农	单抗1	同上	未测	730.75	1042.27	1272.70
	FR1			1.065	0.8935	2.9132
药筛选	三抗	未测	未测	860.32	1103.70	1135.70
	PDFR			0.9326	2.4105	2.5736
γ线辐射	单抗2	82.28	630.38	1334.67	—	—
加农药	FR2	0.8631	0.5745	0.9326		
筛选	双抗	未测	565.72	1430.74	—	—
	PFR		0.7352	4.2005		

注：表中数据用浸玻片法测得，上行为LC_{50}，下行为LC-P线斜率b值。

表2 尼氏钝绥螨几个品系对几种拟除虫菊酯的交互抗性

Tab. 2 The comparison of cross-resistance of some *Amblyseius nicholsi* strains to some pyrethroids

药剂	品系	r	n	LC_{50}	F	f	药剂	品系	r	n	LC_{50}	F	f
敌	S	♀0.9639	6	20.17	1	2.59	灭	S	♀0.9839	6	16.97	1	0.28
杀	FR1	♀0.9628	8	133.69	6.46	10.7	扫	FR1	♀0.9867	6	79.4	4.68	1.32
死	PFR	♀0.9808	8	183.76	8.76	23.0	利	PFR	♀0.9810	6	75.21	4.43	1.25
来	S	♀0.9631	6	28.00	1	3.80	兴	S	♀0.9321	6	73.8	1	2.21
		♂0.9512	5	13.00	1	1.30			♂0.9568	5	22.98	1	0.69
	FR1	♀0.9525	7	189.75	6.87	18.1		FR1	♀0.9351	6	235.65	3.19	7.14
福		♂0.9458	6	58.35	4.49	5.84	棉		♂0.9438	6	89.55	3.90	2.71
	FR2	♀0.9433	7	151.54	5.41	15.1		FR2	♀0.9528	7	283.47	3.84	8.59
		♂0.9521	6	71.33	5.49	7.13			♂0.9611	6	113.24	4.93	3.43
灵	PFR	♀0.9815	6	125.50	4.48	12.6	宝	PFR	♀0.9618	9	312.55	4.23	9.47
		♂0.9737	6	92.30	7.1	9.2			♂0.9541	6	158.31	6.89	4.80

注：r：LC-P线的相关系数，**：相关极显著($\alpha=0.01$)，*：相关显著($\alpha=0.05$)，
$F=LC_{50}(R)/LC_{50}(S)$，下同，f=各品系LC_{50}/供试农药田间使用浓度

加农药筛选的两种选育方法进行比较，从表1可以看到，两种方法培育出的几个抗性品系到暂停筛选时，抗性水平基本相同，其LC_{50}与敏感品系的最后一次测定值比较，抗性倍数 [$F=LC_{50}(R)/LC_{50}(S)$]均在20倍以上，即：F1B(FR1)=22. 1，F2(PDFR)=29.7，F3(FR2)=24.16，F4(PFR)=24.8，但辐射诱导加农药筛选的比单

纯农药筛选的缩短时间 1 年以上，分别为 12 个月(1989.3—1990.3)和 27 个月(1988.3—1990.6)，这一结果基本上达到了原设想之一——缩短抗性筛选时间。

表 2 的结果表明，用两种方法培育出的不同抗性品系对当前常用的菊酯类农药均有一定的交互抗性。从 LC_{50} 值来看，与对多虫畏的抗性相似，雄性的 LC_{50} 值均低于雌性 LC_{50} 值。

二、交互抗性 各抗性品系对供试农药的抗性(LC_{50})无明显的差异，说明各抗性品系对拟除虫菊酯的解毒机制可能相似。另一结果就是：上述对拟除虫菊酯农药敏感的尼氏螨经改良筛选后，抗性水平即 LC_{50} 比供试的几种拟除虫菊酯的田间使用浓度要高，F 值高达 22.97 倍，为抗性品系的实际应用具备了基础。

三、^{60}Co-γ 线辐射后的生物学效应——尼氏钝绥螨辐射遗传学 1. 尼氏钝绥螨父本被^{60}Co-γ 线辐射后的生物学效应

表 3 尼氏钝绥螨父本被^{60}Co-γ 线辐射后的生物学效应

Tab. 3 The effects of ^{60}Co-γ-radiation on male parents of *Amblyseius nicholsi*

辐射剂量	亲本数 ♀	亲本数 ♀	产卵量 正常，瘪	瘪卵率**	成活数 ♀，♂	成活率 ♀**，♂	性比** ♀/♂	产卵量 /♀
0 ck	5	15	87 84，3	3.45	72 40，32	82.76 45.98，36.78	1.2500	17.4
500	5	15	67 66，1	1.49	55 28，27	82.08 41.79，40.02	1.037	13.4
1000	5	15	95 83、12	12.63	75 34、41	78.95 35.79．43.16	0.8293	17.0
2000	5	15	89 78，1	25.77	61 19，42	68.54 21.53，47.19	0.4524	17.8
4000	5	15	92 67，25	37.88	55 21，34	59.78 22.83，36.96	0.6176	18.4
5000	5	15	66 37，29	47.83	34 9，25	51.52 13.64，37.87	0.3608	13.2
6000	5	15	69 36，33	50.53	33 8，25	47.83 11.59，36.23	0.3200	13.8
8000	35	45	401 196，205	51.37	182 2．180	45.39 0.499，44.89	0.0111	11.5
10000	5	15	53 20，33	60.31	8 0、8	15.09 0，15.09	0	10.6

注：成活率＝成活数／产卵量；＊.＊：分别为处理间差异显著及极显著。

被照射的父本与未辐射的母本交配产生后代的情况见表 3。表 3 中的数据与作者已报道的结果(黄明度等，1989)显示出十分一致的趋势。辐射诱发了显性致死突变，多种生物学指标在处理间差异显著，辐射生物学效应与剂量关系密切。经方差分析及回归分析得如下结果：不同剂量处理父本后，单雌产卵量、F1 代雄虫成活率均无明显差异，但 F1 代存活率及雌虫存活率差异显著。换言之，F1 代死亡个体主要是雌虫。由于尼氏钝绥螨必须经过交配才能产卵，那么辐射后代存活率变化而雄性存活率不变，这表明

显性致死基因在 F1 代雌性中起作用，而在雄性中没有作用或作用甚小。进一步推理，可能是来自父本的染色体的致死基因没有表达，这意味着染色体异染色质化失活或丢失。根据前人研究结果(Hoy，1982，1985)，许多种植绥螨存在拟单倍体现象，即受精合子在发育约 24—48 h 过程中，来自父本的染色体异染色体化或丢失，最终发育为单倍体的雄性(Hoy，1982，1985)。根据上述结果，作者认为，尼氏钝绥螨雄性个体为单倍体(或叫拟单倍体)。从成活的后代个体中可以看到，卵成活率与剂量呈负相关，较低剂量范围内，应发育为雌性个体的卵所携带父本染色体的显性致死作用随剂量增加而增大，呈直线 Y = −0.7074+1.4880X 的关系，达到足够高的剂量(如 8000 rad)时，雌性合子(按正常性比为 50%)由于致死基本的作用而全部致死，结果约 50%的卵在胚胎发育期死亡成为瘪卵。当剂量太高(10000 rad)时，使发育为雄性个体的合子也受影响，甚至造成死亡。据观察，此时大多数瘪卵是在刚产下时形成的。由于该螨需经交配才能产卵，则可推测：来自父本的染色体不仅仅是为后代雌性提供染色体基因，对刺激产卵和雄性的早期发育是必不可少的。

2. 不同辐射剂量对生物学性状的影响

表 4　一些生物学效应与辐射剂量的关系

Tab. 4　Some linear relations between bioeffects and radiation dosages

效　应	直线方程	r	n	RLD_{50}(P = 0.95 水平置信限)
世代死亡率 Y1	−3.2190+2.158X	0.9709**	8	6426.87(6237.39−6637.39)
瘪卵率　Y2	−0.7074+1.488X	0.9896**	7	6850.15(5340.72−8786.18)
雌螨死亡率 Y3	−2.8510+2.357X	0.9025**	7	2139.59(801.56−5710.78)
雄螨死亡率 Y4	r 不显著	0.1795	7	—
性比　Y5	2.9476−0.7091X	−0.9230**	7	—

注：数据来自表3，X为剂量对数值；Yi(i = 1...5)为校正后的机值。Y1−4 = (对照存活率−处理存活率)／对照存活率，Y5 = 处理值／对照值。

从表 4 中各关系式可得，当瘪卵率 Y2 为 50%时，剂量为 6850.15 rad，此剂量使世代死亡率接近 50%。性比由对照 1：0.8 改变为 1：44。反之，使雌螨死亡达 85%的剂量(由 Y3 得 10672.17 rad)使世代死亡率达一半以上(68.3%)，性比为 0.091(♀：♂ = 1：11)，这就定量地证明了在一定剂量范围内辐射作用主要是通过带有显性致死突变基因的染色体作用于双倍体的雌性后代，而对拟单倍体的雄性影响甚小。另外，本实验 F1 代卵死亡率 RLD_{50} = 6850.15 rad 与双亲被辐射后 F1 代卵死亡率的 RLD_{50} = 1844.06(黄明度等，1989)相差甚大(约 3.7 倍)，说明两种处理方法对后代影响是不同的。

讨　论

1. 对于昆虫抗药性形成流行着两种学说，一种认为抗性基因在种群中以一定频率产生和消失，具有自身的平衡规律，农药的使用打破平衡起定向选择作用，在农药选择压下，抗性个体存活而敏感个体死亡，最终形成抗性种群，抗性是前适应现象

preadaptation，另一种学说认为昆虫种群内没有抗性基因，农药作为一种诱导剂在施用中起诱导基因突变的作用，导致种群内基因突变产生抗性基因型个体，最终由于抗性基因积累形成抗性品系，抗性为后适应现象（preadaptation)(赵善欢，1983；张宗炳，1987；Pedigo，1989)。本研究对尼氏钝绥螨抗性培育过程中，辐射可能起诱导突变的作用，增加突变频率，而农药除选择作用之外或许兼具诱变作用(化学诱变)。

2. 2000 rad 的剂量辐射双亲时可使 F1 代卵死亡 50%左右，而如果仅辐射父本则 F1 代卵死亡率约 21.3%，辐射母本后的生物学效应还需进一步研究。

3. 陈春生等(1988)对上海真历螨用 $^{60}Co-\gamma$ 线辐射后观察到染色体的断裂隙、断片、微小体、环形染色体、粉碎化和多倍体等结构变异，并得到剂量与畸变率之间的关系为：$Y=3.27+14.49\ \lg(X+1)$。而植绥螨的辐射的细胞遗传学尚少报道，这也许与植绥螨染色体微小，普通细胞遗传学方法难以得到良好结果等原因有关。本试验结果与 Helle 等(1978)及 Hoy(1979)对二本钝绥螨及西方盲走螨的辐射结果一致，即辐射线达到一定剂量时，父本被辐射后只能产生雄性后代，雄性后代的染色体全来自母体，而带有显性致死基因的染色体在雌性发育中表达使之死亡，使性比改变(从 1.25：1 到 0.0111：1)，从辐射遗传学角度证明尼氏钝绥螨为拟单倍体种，但细胞遗传学证据有待进一步研究。

4. 本研究在对辐射剂量与后代死亡率的关系定量化研究时，用 LD−P 直线拟合，以求得 RLD_{50}。1930 年 Oliver 最先报道，用 X 线辐射果蝇成熟精子，剂量与性连锁隐性致死频率在 2580—4750 rad 内呈直线关系。以后有人总结 X 线对果蝇辐射，在 4.75—3800 rad 范围内，性连锁致死突变随剂量增加而呈线性关系。每 950 rad 增加 2%死亡率。本研究结果曾将剂量对 F1 代的生物学效应的关系用直线及指数关系拟合，适合性不好，最后将剂量对数——死亡率机值用直线拟合，适合性良好。

致谢：本研究在实验过程中得到杨余兵、熊锦君等同志的帮助，一并致谢。

参 考 文 献

张宗炳. 1987. 从种群遗传学讨论昆虫抗药性的形成与消失. 植物保护. 13(13): 40—42.

陈春生，孟阳春. 1988. $^{60}Co-\gamma$ 引起上海真历螨染色体畸变的研究. 动物学研究，9(1): 21.

赵善欢. 1983. 害虫的病原菌对农药的抗性及其克服办法. 华南农学院《植物化学保护》. 农业出版社.

黄明度等. 1989. 《柑桔害虫综合治理论文集》. 广州，学术期刊出版社.

Hoy M A. 1979. Parahaploidy of arrhenotokous: *Metaseiulus occidentalis* (Reshitt) *Int. J. Acarl.*, 3: 117−122.

Helle *et al.* 1978. Genetic evidence for biparental males in hapodiploid predatory mite. *Genetica*, 49: 156−171.

Oliver J H. 1977. Cytogenetics of mites and ticks. *Ann. Rev. Ent.*, 22: 407−429.

Pedigo L P. 1988. Ecological backlash and pest management. In Pedigo, L. P. eds Entomology and pest management. New York: MacMillan Publishing Company, 489−516.

THE INDUCED PYRETHROID−RESISTANCE AND OTHER BIOLOGICAL EFFECTS BY ^{60}Co−γ RADIATION ON *Amblyseius nicholsi* EHARA *et* LEE (Acarina: Phytoseiidae)

Tian Zhaodong　Du Tongyuan　Huang Mindu

(*Guangdong Entomological Institute, Guangzhou* 510260)

This paper reported: 1. The ^{60}Co−γ radiation induced pyrethroid−resistance of predatory mite, *Amblyseius nicholsi*, an important natural enemy of citrus red mite *Panonychus citri*. 2. Some other biological effects of ^{60}Co−γ radiation on *A. nicholsi*. The LC_{50}s of S−5439 (a pyrethroid insecticide) to the two strains, FR2 and PFR which were radiated three times with 2000 rad (dosage rate = 140 rad / min) of γ−ray and selected with S−5439 for 12 months, were 1.3347×10^{-3} and 1.4307×10^{-3} ppm respectively, and were about 23−fold compared with that of the sensitive strain. And the selecting periods of FR2 and PFR were shorter than half that of FR1 and PDFR which were selected only with S−5439 for 27 months. FR1, FR2 and PDFR were all performed some extent cross−resistance to other pyrethroid insecticides. The LC_{50}s of the tested pyrethroids to FR1、FR2 and PFR were higher than their application concentrations in fields. It will be desirable for the practical utilization of these resistant strains in biological control of pest mites.

The results of radiation genetics suggested that *A. nicholsi* might be a parahaploid species. The increase of ^{60}Co−γ dosage resulted in the decrease of sexual ratio (♀ : ♂). The RLD_{50}s (Medium Radiation Lethal Dosage) of F1 eggs estimated from the obtained data were different in the two cases of radiating only male father or both male and female parents.

Key words: ^{60}Co−γ−radiation, *Amblyseius nicholsi*, Pyrethroid−resistance, Parahaploid, S−5439